动　物　学　研　究　2009，Aug. 30(4): 377−380　　CN 53-1040/Q　ISSN 0254-5853
Zoological Research　　DOI：10.3724/SP.J.1141.2009.04377

精神分裂症易感基因 GULP1 与中国人群大脑容量的相关性研究

施晓东[1]，王金凯[2,3,4]，李　易[1]，罗雄剑[2,3,4]，张　卫[1]，宿　兵[2,3,*]

（1. 曲靖师范学院 生物资源与环境科学学院，曲靖　655011；2. 中国科学院昆明动物研究所 遗传资源与进化国家重点实验室，昆明　650223；3. 中国科学院昆明灵长类研究中心，昆明　650223；4. 中国科学院研究生院，北京　100049）

摘要：精神分裂症是一种复杂的精神疾病，全世界约有 1%的人患有这种疾病。以往的研究发现精神分裂症患者的脑容量比正常人小，且一些精神分裂症易感的 DNA 序列多态性也同时与脑的结构异常有关，这与精神分裂症的神经发育假说是吻合的。最近研究发现人的 GULP1 基因的两个 SNP（rs2004888 和 rs4522565）与精神分裂症显著相关。为了研究这两个精神分裂症易感的 SNP 是否也符合神经发育假说，我们检测了 791 个正常人的这两个 SNP 的基因型并测量它们的脑容量，相关性分析发现这两个 SNP 和脑容量无关，说明 GULP1 的精神分裂症易感性存在更加复杂的机制。

关键词：精神分裂症；脑容量；GULP1；SNP
中图分类号：Q39; R749.3　　**文献标识码**：A　　文章编号：0254-5853-(2009)04-0377-04

Association Study of a Schizophrenia Susceptible Gene GULP1 with Brain Volume in Chinese Populations

SHI Xiao-dong[1], WANG Jin-kai[2,3,4], LI Yi[1], LUO Xiong-jian[2,3,4], ZHANG Wei[1], SU Bing[2,3,*]

(1. *College of Biological Resources and Environmental Science, Qujing Normal University, Qujing* 655011, *China*; 2. *State Key Laboratory of Genetic Resources and Evolution, Kunming Institute of Zoology, the Chinese Academy of Sciences, Kunming* 650223, *China*; 3. *Kunming Primate Research Centre, the Chinese Academy of Sciences, Kunming* 650223, *China*; 4, *Graduate University of the Chinese Academy of Sciences, Beijing* 100049, *China*)

Abstract: Schizophrenia is a complex mental disease which affects about 1% of the world population. Previous studies reported that the brain volumes of the schizophrenia patients were much smaller than normal people and many schizophrenia susceptible genetic variants were associated with structural brain abnormalities in patients, which is consistent with the neurodevelopmental hypothesis of the etiology of schizophrenia. Recently, two SNPs (rs2004888 and rs452256) of GULP1 were found to be significantly associated with schizophrenia. In this study, to test whether these two SNP of GULP1 are also consistent with the neurodevelopmental hypothesis, we genotyped the two SNPs in 791 Chinese individuals and measured their brain volumes.We found that the two SNPs have no association with brain volume, suggesting that the etiology of schizophrenia is much more complicated.

Key words: Schizophrenia; Brain volume; GULP1; SNP

精神分裂症是一种严重的精神疾病，全世界约有 1%的人患有这种疾病。大量的研究表明，精神分裂症患者有认知能力的障碍和大脑的异常。关于精神分裂症的发病机制，有很多种假说，包括神经发育假说、多巴胺假说、谷氨酸能假说、γ－氨基丁酸（GABA）能假说以及免疫假说等等（Lang et al，2007）。现在越来越多的人认同神经发育假说，该假说认为精神分裂症患者的大脑在未达到成年期前的各个阶段发生了神经环路的病理性改变，从而导致阳性症状或阴性症状的出现（Lewis et al，2002）。另外，通过对精神分裂症患者和正常人的脑容量比较发现，精神分裂症患者的脑容量较小（Cahn et al，2002）。越来越多的研究发现，很多与精神分裂症相关的基因同时也与脑特定区域的

收稿日期：2009-06-18；接受日期：2009-07-01
基金项目：云南省科技计划项目（2006C0083M）
*通讯作者(Corresponding author)，Tel: +86 8715120212; Fax: +86 8715193137; E-mail: sub@mail.kiz.ac.cn

大小有关，特别是灰质大小和海马大小（Honea et al，2005；Lawrie et al，1998；Velakoulis et al，1999；Wright et al，2000；Zipursky et al，1992）。

人的GULP1 基因（也称GULP或者 engulfment adaptor PTB domain containing 1）位于 2 号染色体的 2q32.3-q33 区域。它编码一个 304 个氨基酸的蛋白质。它是一个接头蛋白，在细胞凋亡吞噬的过程中发挥作用（Liu et al，1999；Smits et al，1999；Su et al，2002）。最近, Chen et al (2009)研究发现GUIP1 基因与精神分裂症相关，GULP1 基因的两个单核苷酸多肽位点（SNP）rs2004888 和rs4522565 都显著地与精神分裂症相关，尤其是rs2004888 在多个群体中都很显著（将所有样本作为整体，$P=2.36\times10^{-5}$）。

最近的研究表明，很多与精神分裂症相关的基因与正常人的脑容量或者脑内结构有关，这与精神分裂症的神经发育假说是吻合的（Ho et al，2007；Pezawas et al，2004）。虽然 GULP1 已经被证明和精神分裂症相关，但是它是否也同正常人的脑容量有关还尚不清楚。研究 GULP1 与精神分裂症相关的 SNP 是否也与脑容量相关，将近一步揭示 GULP1 的致病机理，并对神经发育假说的验证提供更多的素材。

在本研究中，我们通过测量头颅容积的方法间接测量了 791 个正常的中国人样本的脑容量，并测定每个个体的 rs2004888 和 rs4522565 的基因型，通过相关性分析，结果发现这两个 SNP 和头颅容积的相关性不显著。

1 材料和方法

1.1 样 本

所用样本一共有 791 个，包含 347 个男性和 444 个女性。90%的样本为汉族，另外 10%来自 14 个西南少数民族群体。所有的样本均从云南省采集，所有的个体均提供了知情同意书。

1.2 基因分型

样本 DNA 由血样提取。通过 PCR(聚合酶链式反应)的方法扩增 rs2004888 和 rs4522565 的 DNA 片段。rs2004888 的正反引物分别是 5'-TTTTGG-ATTCGGCGGATTAGG-3'和 5'-CTGGAAGTTCGC-TCCTGGGTC-3'，反应条件为预变性 95℃ 5 min，变性 95℃ 30 s，退火 58℃ 30 s，延伸 72℃ 30 s，共 35 个循环。rs4522565 的正反引物分别是 5'-GCTATTAGGGAGGCTGAGGTG-3'和 5'-TGA-GGGCAAAGCACATAACAA-3'，反应条件为预变性 95℃ 5 min，变性 95℃ 30 s，退火 62℃ 30 s，延伸 72℃ 30 s，共 35 个循环。基因分型采用的是 ABI（Applied Biosystems）公司的 SNaPShot 的方法，并在 3130 测序仪上完成。

1.3 脑容量的测量

通过测量头颅容积的方法来间接测量脑容量，分别测量三个主要的测量指标：颅长（L，从眉间点到枕骨隆突的距离）；颅宽（B，顶骨宽，两个顶节之间的距离）；颅高（H，从内耳道到头颅最高点的距离）。头颅容积的计算采用由 Williams et al（1995）提出的公式：男性，0.337(L-1.1)(B-1.1)(H-1.1)+ 406.01 毫升；女性，0.400 (L-1.1)(B-1.1)(H-1.1)+206.60 毫升。

1.4 数据分析

哈迪温伯格平衡检验采用软件 PEDSTATS-0.6.8（Wigginton et al，2005）完成。SNP 和脑容量的相关性采用 PLINK 软件（Purcell et al，2007）来进行分析。在分析中，我们采用线性模型来分析每个 SNP 的加性效应，即分别将两种纯合的基因型赋值为 0 和 2，而将杂合的基因型赋值为 1，并统计基因型和脑容量的相关性。用身高和体重进行矫正时，我们把身高和体重作为协变量引入到线性方程中进行统计分析。身高、体重与脑容量的相关性采用 SPSS 13.0 进行分析，即以身高或者体重作为自变量，而脑容量作为因变量做线性回归模型分析。

2 结 果

2.1 SNP 特征及哈迪温伯格平衡检验

我们选取了 GULP1 基因在 Chen et al （2009）的研究中和精神分裂症显著相关的两个 SNP（rs2004888，rs4522565）来检测它们是否也和脑容量有关。这两个 SNP 均位于内含子中。这两个 SNP 的各个等位基因的频率见表 1。另外经过检验，这两个 SNP 均符合哈迪温伯格平衡。

2.2 脑容量的测量结果

图 1 显示的是所有样本及各性别的脑容量的分布情况，可以看出脑容量呈现正态分布的样式，男性的脑容量的平均值（1359 毫升）大于女性的脑容量平均值（1230 毫升），经独立样本 *t* 检验，其 *P* 值小于 0.001，说明男性的脑容量在统计学上显著

表 1　rs2004888 和 rs4522565 的特征及等位基因频率
Tab. 1　Characters and allele frequencies of rs2004888 and rs4522565

SNP	染色体位置 Chromosome location	等位基因 Alleles	低频等位基因 Minor allele	低频等位基因频率（%） Minor allele frequency(%)
rs2004888	Chr2:188864958	A:C	C	5.8
rs4522565	Chr2:188906332	A:G	G	24.8

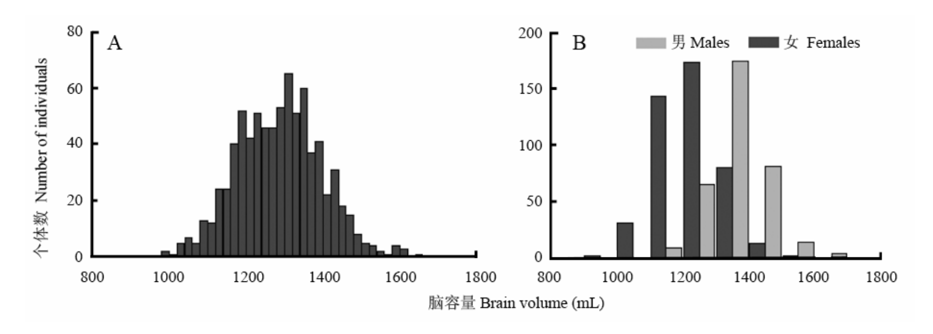


图 1　脑容量的分布图
Fig. 1　Distribution plot of brain volumes
A: 全部样本的脑容量分布；B: 男性和女性样本的脑容量分布。
A: The distribution of brain volumes of all the individuals; B: The distributions of brain volumes of males and females.

大于女性的脑容量，这些结果与以前的研究都是吻合的。

2.3　相关性分析

我们用线性回归的方法分别检测这两个 SNP 是否与脑容量相关，当用所有的样本来统计时，这两个 SNP 没有表现出显著的相关性（rs2004888，P=0.675；rs4522565，P=0.788）（表 2）。为了检验这两个 SNP 是否存在性别特异的相关性，我们将男性样本和女性样本分别进行统计，分析发现单独的男性样本和女性样本也都不和脑容量相关(表 2)。

2.4　用身高和体重对脑容量矫正后的相关性分析

根据报道，身高和体重是和脑容量紧密相关的（Ho et al，1980），在我们所用的样本中，身高和体重也和脑容量紧密相关（P<0.001），这和前人的结果是一致的。为了排除身高和体重的因素对这两个 SNP 和脑容量的相关性的影响，我们引入身高和体重作为协变量，分析发现，这两个 SNP 经过身高和体重矫正后也不与脑容量相关(表 2)。

3　讨　论

本研究以 791 个中国人为样本研究了 GULP1 基因的两个和精神分裂症相关的 SNP 与脑容量的相关性，无论是否用身高体重对脑容量进行矫正，这两个 SNP 都不和脑容量相关。本研究的结果一定程度上说明 GULP1 与精神分裂的关系可能并不完全依赖于神经发育模型，或者它可能有较为复杂的机制。

在前人的研究中，这两个 SNP 都和精神分裂症相关，而现在越来越被广泛接受的观点认为：精神分裂症是一种大脑发育缺陷病（Lewis et al，2002）。研究也发现很多和精神分裂症相关的 SNP 同时也和脑容量或者脑内部的结构缺陷有关（Addington et al，2005；Ho et al，2007；Pezawas et al，2004）。然而，我们的研究发现 GULP1 的这两个 SNP 并不

表 2　rs2004888 和 rs4522565 与脑容量的相关性分析的 *P* 值
Tab. 2　*P* values of the association tests of rs2004888 and rs4522565 with brain volume

SNP	总的样本 All	男性 Males	女性 Females	矫正后的总的样本 ALL corrected	矫正后的男性 Males corrected	矫正后的女性 Females corrected
rs2004888	0.675	0.835	0.871	0.217	0.433	0.603
rs4522565	0.788	0.867	0.819	0.544	0.644	0.698

矫正后的 P 值表示用身高和体重进行矫正后的 P 值。
Corrected P values means the P values corrected by body height and body weight.

和脑容量相关。但是这并不能否定上述观点，首先，我们只是测量了每个个体的脑容量，虽然很多精神分裂症相关的基因对大脑发育的影响能够在脑容量上体现出来，但是也有一些例子表明这些发育缺陷只是体现在大脑内部的特定区域，比如海马区等。因此，我们并不能排除 GULP1 的这两个 SNP 可能影响大脑的内部细微结构，而在整个的脑容量上没有体现出来。其次，本实验所用的样本为正常人样本，虽然研究表明精神分裂症易感的基因型也能影响正常人的脑容量（Ho et al，2007；Pezawas et al，2004），但是我们不能排除 GULP1 的这两个 SNP 在正常人中和脑容量无关，而在病人中可能相关。最后，虽然有报道表明 GULP1 和精神分裂症显著相关，但是在 Chen et al（2009）的研究中，rs2004888 在他们所采用的中国昆明的样本中的结果与其他人群样本中的结果并不一致，这说明很可能 GULP1 和精神分裂症的相关性存在群体差异，而它与脑容量的相关性也可能存在群体差异，因此我们也不能排除它在其他群体中 GULP1 仍然可能与脑容量相关。

致谢：感谢为本研究的开展提供 DNA 样本的志愿者。感谢中国科学院昆明动物研究遗传资源与进化国家重点实验室的张慧和李燕皎在实验方面的技术支持。

参考文献：

Addington AM, Gornick M, Duckworth J, Sporn A, Gogtay N, Bobb A, Greenstein D, Lenane M, Gochman P, Baker N, Balkissoon R, Vakkalanka RK, Weinberger DR, Rapoport JL, Straub RE. 2005. GAD1 (2q31.1), which encodes glutamic acid decarboxylase (GAD67), is associated with childhood-onset schizophrenia and cortical gray matter volume loss[J]. *Mol Psychiatry*, **10**(6): 581-588.

Cahn W, Hulshoff Pol HE, Lems EB, van Haren NE, Schnack HG, van der Linden JA, Schothorst PF, van Engeland H, Kahn RS. 2002. Brain volume changes in first-episode schizophrenia: a 1-year follow-up study[J]. *Arch Gen Psychiatry*, **59**(11): 1002-1010.

Chen X, Sun C, Chen Q, O’Neill FA, Walsh D, Fanous AH, Nimgaonkar VL, Schwab SG, Wildenauer DB, Che R, Shi Y, He L, Su B, Edwards TL, Zhao Z, Kendler KS. 2009. Apoptotic engulfment pathway and schizophrenia[J]. (submitted).

Ho BC, Andreasen NC, Dawson JD, Wassink TH. 2007. Association between brain-derived neurotrophic factor Val66Met gene polymorphism and progressive brain volume changes in schizophrenia[J]. *Am J Psychiatry*, **164**(12): 1890-1899.

Ho KC, Roessmann U, Straumfjord JV, Monroe G. 1980. Analysis of brain weight. II. Adult brain weight in relation to body height, weight, and surface area[J]. *Arch Pathol Lab Med*, **104**(12): 640-645.

Honea R, Crow TJ, Passingham D, Mackay CE. 2005. Regional deficits in brain volume in schizophrenia: a meta-analysis of voxel-based morphometry studies[J]. *Am J Psychiatry*, **162**(12): 2233-2245.

Lang UE, Puls I, Muller DJ, Strutz-Seebohm N, Gallinat J. 2007. Molecular mechanisms of schizophrenia[J]. *Cell Physiol Biochem*, **20**(6): 687-702.

Lawrie SM, Abukmeil SS. 1998. Brain abnormality in schizophrenia. A systematic and quantitative review of volumetric magnetic resonance imaging studies[J]. *Br J Psychiatry*, **172**: 110-120.

Lewis DA, Levitt P. 2002. Schizophrenia as a disorder of neurodevelopment[J]. *Annu Rev Neurosci*, **25**: 409-432.

Liu QA, Hengartner MO. 1999. Human *CED-6* encodes a functional homologue of the *Caenorhabditis elegans* engulfment protein CED-6[J]. *Curr Biol*, **9**(22): 1347-1350.

Pezawas L, Verchinski BA, Mattay VS, Callicott JH, Kolachana BS, Straub RE, Egan MF, Meyer-Lindenberg A, Weinberger DR. 2004. The brain-derived neurotrophic factor val66met polymorphism and variation in human cortical morphology[J]. *J Neurosci*, **24**(45): 10099-10102.

Purcell S, Neale B, Todd-Brown K, Thomas L, Ferreira MA, Bender D, Maller J, Sklar P, de Bakker PI, Daly MJ, Sham PC. 2007. PLINK: a tool set for whole-genome association and population-based linkage analyses[J]. *Am J Hum Genet*, **81**(3): 559-575.

Smits E, Van Criekinge W, Plaetinck G, Bogaert T. 1999. The human homologue of *Caenorhabditis elegans* CED-6 specifically promotes phagocytosis of apoptotic cells[J]. *Curr Biol*, **9**(22): 1351-1354.

Su HP, Nakada-Tsukui K, Tosello-Trampont AC, Li Y, Bu G, Henson PM, Ravichandran KS. 2002. Interaction of CED-6/GULP, an adapter protein involved in engulfment of apoptotic cells with CED-1 and CD91/low density lipoprotein receptor-related protein (LRP)[J]. *J Biol Chem*, **277**(14): 11772-11779.

Velakoulis D, Pantelis C, McGorry PD, Dudgeon P, Brewer W, Cook M, Desmond P, Bridle N, Tierney P, Murrie V, Singh B, Copolov D. 1999. Hippocampal volume in first-episode psychoses and chronic schizophrenia: a high-resolution magnetic resonance imaging study[J]. *Arch Gen Psychiatry*, **56**(2): 133-141.

Wigginton JE, Abecasis GR. 2005. PEDSTATS: Descriptive statistics, graphics and quality assessment for gene mapping data[J]. *Bioinformatics*, **21**(16): 3445-3447.

Williams PL, Bannister LH, Berry MM, Collins P, Dyson M, Dussek JE, Ferguson MWJ. 1995. Gray's Anatomy [M]. 38th ed. London: Churchill Livingstone, 612.

Wright IC, Rabe-Hesketh S, Woodruff PW, David AS, Murray RM, Bullmore ET. 2000. Meta-analysis of regional brain volumes in schizophrenia[J]. *Am J Psychiatry*, **157**(1): 16-25.

Zipursky RB, Lim KO, Sullivan EV, Brown BW, Pfefferbaum A. 1992. Widespread cerebral gray matter volume deficits in schizophrenia[J]. *Arch Gen Psychiatry*, **49**(3): 195-205.